

## The Delphion Integrated View

Get Now: PDF | [File History](#) | [Other choices](#)

Tools: Add to Work File: Create new Work

View: [Expand Details](#) | [INPADOC](#) | Jump to:

Go to: [Derwent](#)

[Ema](#)

Title: **EP0018515B1: Process for the preparation of chenodeoxycholic aci intermediate products**[\[German\]](#)[\[French\]](#)

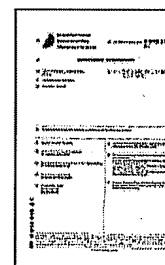
Derwent Title: Norcholane derivs. from 3-keto-bis:norcholenol - useful as intermediates for chenodeoxycholic acid [\[Derwent Record\]](#)

Country: EP European Patent Office (EPO)

Kind: B1 Patent <sup>1</sup> (See also: [EP0018515A2](#), [EP0018515A3](#))

Inventor: **Despreaux, Carl;**  
**Narwid, Thomas Albert;**  
**Palleroni, Norberto J.;**  
**Uskokovic, Milan R.;**

Assignee: **F. HOFFMANN-LA ROCHE & CO. Aktiengesellschaft**  
 *Corporate Tree data:* Roche HoldingLtd. ( [ROCHE](#) );  
[News, Profiles, Stocks and More about this company](#)



Published / Filed: **1982-10-27** / 1980-04-09

Application **EP1980000101893**

Number:

IPC Code: Advanced: [C07J 9/00](#); [C07J 31/00](#); [C12P 33/06](#);  
Core: [C12P 33/00](#); more...  
IPC-7: [C07J 9/00](#); [C07J 31/00](#); [C12P 33/06](#);

Priority Number: 1979-04-12 **US1979000029420**

Abstract: [From equivalent [EP0018515A3](#)] SDOAB  
A multi-step synthesis of chenodeoxycholic acid from 3-keto-bisnorcholenol, a compound readily obtained from the abundant plant sterol beta -sitosterol, is described. A key step in the synthesis is the stereoselective microbial introduction of the 7-alpha hydroxy group into 3-keto-bisnorcholenol.

Attorney, Agent **Lederer, Franz, Dr. et al ;**

or Firm:

INPADOC

[Show legal status actions](#)

Get Now: [Family Legal Status Report](#)





Legal Status:

Designated AT BE CH DE FR GB IT LI NL

Country:


Family:


PDF	Publication	Pub. Date	Filed	Title
	<a href="#">US4301246</a>	1981-11-17	1980-01-18	Process for chenodeoxycholic acid produ
	<a href="#">US4230625</a>	1980-10-28	1979-04-12	Process for chenodeoxycholic acid and intermediates therefore
	<a href="#">JP56008399A2</a>	1981-01-28	1980-04-11	KENODEOKISHIKOORUSANNOSEIZO

	<a href="#">EP0018515B1</a>	1982-10-27	1980-04-09	Process for the preparation of chenodeoxy acid and intermediate products
	<a href="#">EP0018515A3</a>	1981-01-07	1980-04-09	Process for the preparation of chenodeoxy acid and intermediate products
	<a href="#">EP0018515A2</a>	1980-11-12	1980-04-09	Process for the preparation of chenodeoxy acid and intermediate products
	<a href="#">DE3060991C0</a>	1982-12-02	1980-04-09	PROCESS FOR THE PREPARATION OF CHENODEOXYCHOLIC ACID AND INTERMEDIATE PRODUCTS
	<a href="#">AT0001710E</a>	1982-11-15	1980-04-09	VERFAHREN ZUR HERSTELLUNG VON CHENODEOXYCHOLSAEURE UND ZWISCHENPRODUKTE DAZU.
8 family members shown above				

 Forward  
References:

**Go to Result Set:** [Forward references \(1\)](#)

PDF	Patent	Pub.Date	Inventor	Assignee	Title
	<a href="#">US6933383</a>	2005-08-23	Kinney; William A.	Genaera Corporation	<a href="#">Regioselective and stereoselective oxidation of fused ring system for the preparation of aminosteroids</a>

 Other Abstract  
Info:

CHEMABS 095(01)007603U



[Nominate this for the Gallery...](#)



Copyright © 1997-2006 The Thomson Group

[Subscriptions](#) | [Web Seminars](#) | [Privacy](#) | [Terms & Conditions](#) | [Site Map](#) | [Contact Us](#)

⑩ 日本国特許庁 (JP)

⑪ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報 (A)

昭56—8399

⑬ Int. Cl.<sup>3</sup>  
C 07 J 9/00  
// C 12 P 33/06

識別記号

庁内整理番号  
6408—4C  
6712—4B

⑭ 公開 昭和56年(1981)1月28日  
発明の数 7  
審査請求 未請求

(全 14 頁)

⑮ ケノデオキシコール酸の製造方法

⑯ 特 願 昭55—47936

⑰ 出 願 昭55(1980)4月11日

優先権主張 ⑱ 1979年4月12日 ⑲ 米国(US)  
⑳ 29420

㉑ 発 明 者 ガール・デスブリークス  
アメリカ合衆国ニュージャージ  
ー州シーダー・グローブ・ダニ  
エル・ドライブ23

㉒ 発 明 者 トーマス・アルバート・ナウ  
イット  
アメリカ合衆国ニュージャージ

㉓ 発 明 者 ノーベルト・ジェイ・パレロニ  
アメリカ合衆国ニュージャージ  
ー州ノース・ゴールドウエル・  
ホワイト・オーク・ドライブ47  
㉔ 出 願 人 エフ・ホフマン・ラ・ロシュ・  
ウント・コンパニー・アクチエ  
ンゲゼルシャフト  
スイス国バーゼル・グレンツア  
ヒェルシュトラーセ124—184

㉕ 代 理 人 弁理士 浅村皓 外4名  
最終頁に続く

明細書の浄書(内容に変更なし)  
明 細 書

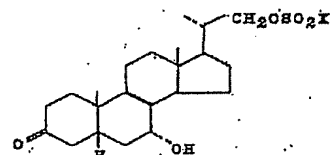
1. 発明の名称

ケノデオキシコール酸の製造方法

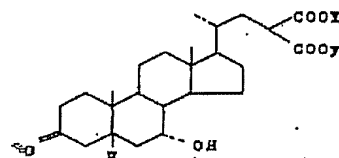
2. 特許請求の範囲

- (1) (5 $\beta$ )-2,4-二ノルコラン-3 $\alpha$ , 7 $\alpha$ -ジオール-2,3, 2,3-ジカルボン酸を熱脱炭酸に付すことを特徴とするケノデオキシコール酸の製造方法。
- (2) 出発原料である(5 $\beta$ )-2,4-ノルコラン-3 $\alpha$ , 7 $\alpha$ -ジオール-2,3, 2,3-ジカルボン酸は、(A) 3-ケト-ビスノルコレノールを *Botryodiplodia theobromae* IFO 6469, DSM 62-678, DSM 62-679; *Lasiodiplodia theobromae* ATCC 28570; *Botryosphaeria ribis* ATCC 22802, *B. berengeriana* ATCC 12557, *B. rhodina* CBS 374, 54, CBS 287, 47およびCBS 306, 58 から選ばれる微生物またはその酵素抽出液によつて7 $\alpha$ -ヒドロキシ化して7 $\alpha$ -ヒドロキシ-3-ケトビスノルコレノールに導き、(B) この7 $\alpha$ -ヒドロキ

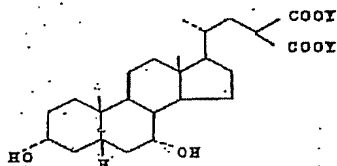
シ-3-ケトビスノルコレノールをパラジウム酸媒の存在下に水素添加して(5 $\beta$ )-7 $\alpha$ , 2,2-ジヒドロキシ-2,3, 2,4-ビスノルコラン-3-オンに導き、(C) 工程(B)の生成物をメチルまたはエートリルスルホニルハライドから選ばれるスルホニルハライドと反応させて、式



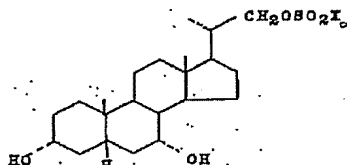
(式中Xはメチルまたはエートリルである)で示される化合物を得、ついで(B)この工程(C)の生成物をマロン酸ジC<sub>1-3</sub>アルキルエステルナトリウム塩と反応させて、式



(式中 $X$ は $C_{1-3}$  アルキルである)で示される化合物を得、(同工程(4))における生成物を化学還元剤で処理して式



(式中 $X$ は $C_{1-3}$  アルキルである)で示される化合物を得、(同工程(4))における生成物を強塩基で加水分解して(5 $\beta$ )-24-ノルコラン-3 $\alpha$ , 7 $\alpha$ -ジオール-23, 23-ジカルボン酸を得るか、または(同工程(4))の生成物を化学還元剤と反応させて式



( $X$ は先に定義したと同じである)で示される化

3

24-ノルコラン-3 $\alpha$ , 7 $\alpha$ -ジオール-23, 23-ジカルボン酸に導く方法により製造する特許請求の範囲第1項記載の製造方法。

(b)  $X$ は $p$ -トリル、 $Y$ はメチルまたはエチル、 $R$ はフェニルである特許請求の範囲第2項記載の製造方法。

(c) 7 $\alpha$ -ヒドロキシ化の間には吸着剤を存在させる特許請求の範囲第2項記載の製造方法。

(d) 吸着剤はアクリル酸メチルエステルのポリマーであつて最終濃度0.3ないし0.6重量%で存在させ、3-ケト-ビスノルコレノールは約1g/gまでの濃度で存在させる特許請求の範囲第4項記載の製造方法。

(e) 7 $\alpha$ -ヒドロキシ化の間にはキレート剤を存在させる特許請求の範囲第2項記載の製造方法。

(f) キレート剤は2,2'-ビリジルである特許請求の範囲第6項記載の製造方法。

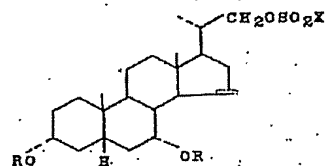
(g) (5 $\beta$ )-24-ノルコラン-3 $\alpha$ , 7 $\alpha$ -ジオール-23, 23-ジカルボン酸。

(h) 式

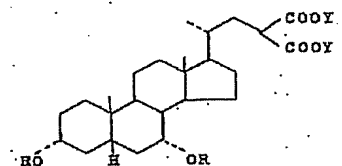
5

特開昭56-8399(2)

化合物に導き、(同工程(4))の生成物をステロイド化学においてヒドロキシ基の保護に常用されるアシル化剤の2倍モル過剰以上と反応させて式



( $X$ は先に定義したと同じであり、 $R$ はアシルである)で示される化合物を得、(同工程(4))の生成物をマロン酸ジ $C_{1-3}$  アルキルエステルナトリウム塩と反応させて式



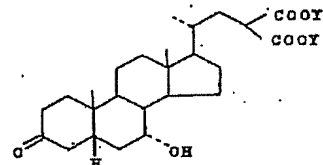
(式中 $X$ は $C_{1-3}$  アルキルであり、 $R$ は先に定義したと同じである)で示される化合物を得、(同工程(4))の生成物を強塩基で加水分解して(5 $\beta$ )-

4

(式中 $X$ は $C_{1-3}$  アルキルである)で示される化合物。

(5 $\beta$ )-24-ノルコラン-3 $\alpha$ , 7 $\alpha$ -ジオール-23, 23-ジカルボン酸ジメチルエステルである特許請求の範囲第9項記載の化合物。

(同) 式



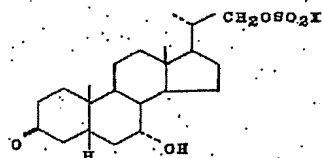
(式中 $X$ は $C_{1-3}$  アルキルである)で示される化合物。

(5 $\beta$ )-24-ノルコラン-3-オン-23, 23-ジカルボン酸ジメチルエステルであ

6

る特許請求の範囲第1項記載の化合物。

例 式



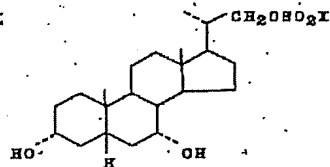
(式中Xはメチルまたはブチルである)で示される化合物。

例 (5 $\beta$ )-7 $\alpha$ -ヒドロキシ-22-[(4-メチルフェニル)スルホニルオキシ]-23, 24-ビスノルコラン-3-オン。

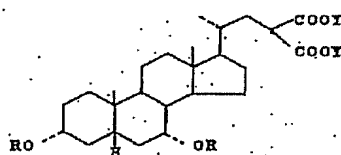
例 (5 $\beta$ )-7 $\alpha$ , 22-ジヒドロキシ-23, 24-ビスノルコラン-3-オン。

例 7 $\alpha$ -ジヒドロキシ-23, 24-ビスノルコロール-4-エン-3-オン。

例 式



7

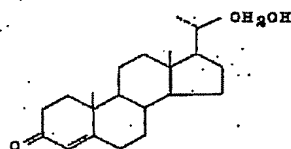


(式中Rはフェニルであり、YはC<sub>1-5</sub>アルキルである)で示される化合物。

例 5 $\alpha$ , 7 $\alpha$ -ジアセトキシ-24-ノルコラン-23, 25-ジカルボン酸ジエチルエステルである特許請求の範囲第2項記載の化合物。

### 3. 発明の詳細な説明

本発明は市販品を容易に入手できる $\beta$ -シトステロールを本技術分野でよく知られた方法によって微生物学的に分解して容易に得られる式



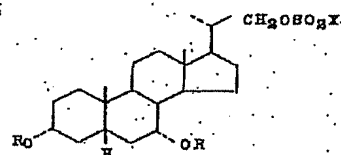
で示される3-ケト-ビスノルコレノール(別名

9

(式中Xはメチルまたはブチルである)で示される化合物。

例 22-[(4-メチルフェニル)スルホニルオキシ]-23, 24-ビスノルコラン-3 $\alpha$ , 7 $\alpha$ -ジオールである特許請求の範囲第1項記載の化合物。

例 式



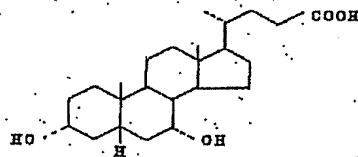
(式中Xはメチルまたはブチルであり、Rはフェニルである)で示される化合物。

例 22-[(4-メチルフェニル)スルホニルオキシ]-23, 24-ビスノルコラン-3 $\alpha$ , 7 $\alpha$ -ジオール-3, 7-ジアセテートである特許請求の範囲第1項記載の化合物。

例 式

8

22-ヒドロキシ-23, 24-ビスノルコロール-4-エン-3-オン)化合物に出発する。式



I

で示されるケノデオキシコロール酸の能率的な合成方法に関する。

本発明の一態様は、(5 $\beta$ )-24-ノルコラン-3 $\alpha$ , 7 $\alpha$ -ジオール-23, 25-ジカルボン酸の熱脱炭酸によるケノデオキシコロール酸の製造方法である。

本発明の他の態様によれば、(5 $\beta$ )-24-ノルコラン-3 $\alpha$ , 7 $\alpha$ -ジオール-23, 25-ジカルボン酸は以下の反応工程により3-ケト-ビスノルコレノールから製造される。

(A) 3-ケト-ビスノルコレノールを

*Botryodiplodia theobromae* IFO 6469,

DSM 62-678, DSM 62-679;

10

*Lasiodiplodia theobromae* ATCC 28570 ;

*Botryosphaeria ribis* ATCC 22802 ,

*B. berengeriana* ATCC 12557 , *B. rhodina*

CBS 374.54 , CBS 287.47 および CBS

306.58 よりなる群から選ばれる微生物ま

たはその酵素抽出液によつて7 $\alpha$ -ヒドロキシ

ル化する工程。

(B) 7 $\alpha$ -ヒドロキシ-3-ケト- $\Delta^4$ -ステロイド

ノールをパラジウム触媒の存在下に水素添加し

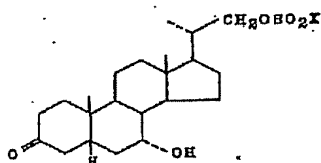
て(5 $\beta$ )-7 $\alpha$  , 2,2-ジヒドロキシ-23 ,

24-ビスノルコラン-3-オンに導く工程。

(C) 工程(B)の生成物をメチルまたはブチル

スホニルハライドから選ばれるスホニルハ

イドと反応させて、式



(式中Xはメチルまたはブチルである)で

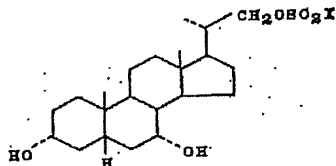
11

て(5 $\beta$ )-24-ノルコラン-3 $\alpha$  , 7 $\alpha$ -

ジオール-23 , 23-ジカルボン酸を得る工

程、または

(D) 工程(C)の生成物を化学還元剤と反応させて式



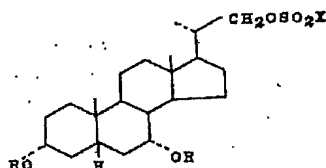
(式中Xは先に定義したと同じである)で示

される化合物を製造する工程。

(E) 工程(D)の生成物をステロイド化学におい

てヒドロキシ基の保護に常用されるアシル化剤の2

倍モル以上過剰と反応させて、式



(式中Xは先に定義したと同じであり、Rはア

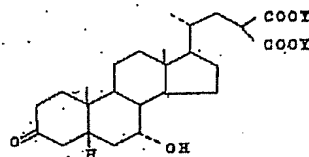
13

特開昭56- 8399(4)

示される化合物を製造する工程。

(F) 工程(C)の生成物をマロン酸ジC<sub>1-3</sub> アルキ

ルエステルのナトリウム塩と反応させて式

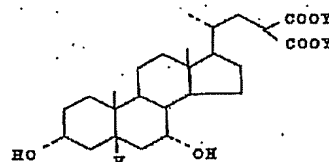


(式中YはC<sub>1-3</sub> アルキルである)で示される

化合物を製造する工程。

(G) 工程(D)における生成物を化学還元剤で処理し

て式



(式中YはC<sub>1-3</sub> アルキルである)で示される

化合物を製造する工程。

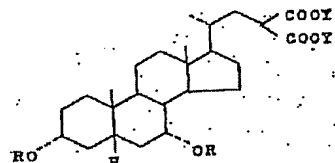
(H) 工程(G)における生成物を強塩基で加水分解し

12

シルである)で示される化合物を製造する工程。

(I) 工程(H)の生成物をマロン酸ジC<sub>1-3</sub> アルキ

ルエステルのナトリウム塩と反応させて、式



(式中YはC<sub>1-3</sub> アルキルであり、Rは先に定

義したと同じである)で示される化合物を製造

する工程、および

(J) 工程(I)の生成物を強塩基で加水分解して(5

$\beta$ )-24-ノルコラン-3 $\alpha$  , 7 $\alpha$ -ジオー

ール-23 , 23-ジカルボン酸を製造する工程

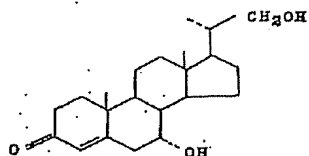
である。

本発明の第一の製造工程では、3-ケト- $\Delta^4$ -

ステロイドノールの7位を微生物によつてヒドロキ

シル化し、式

14



で示される7 $\alpha$ -ヒドロキシ-3-ケート-ピスノルコレノール(7 $\alpha$ , 22-ジヒドロキシ-23, 24-ピスノルコレノール-4-エン-3-オン)を製造する。

各種基質化合物の7 $\alpha$ -ヒドロキシ化が可能であると報告されている41属, 92種, 152菌株の培養微生物について7 $\alpha$ -ヒドロキシ化を検討したが、予想に反して、わずか9種類のきわめて類似した微生物、*Botryodiplodia theobromae* IFO 64469, ATCC 28570, DBM 62-678, DBM 62-679; *Botryosphaeria ribis* ATCC 22802, *B. berengeriana* ATCC 12557, *B. rhodina* CBS 374.54, CBS 287.47およびCBS 306.58のみが本発明に関するステロール基

15

さらに本発明を実施するにあたっては、微生物の培養液から単離された糸菌体または培養液もしくは糸菌体からそれ自体公知の方法で抽出した粗酵素抽出液を適当な条件下に基質と接触させることもできる。この種の実施態様を採用すれば、緩衝液、生理食塩水または無塩メジウムのような水溶液、あるいは水中で7 $\alpha$ -ヒドロキシ化が有利に行われる。基質は微粉末の形でまたは親水性溶媒たとえばアセトン、ジメチルスルホキシド、メタノール、エタノール、エチレングリコール、プロピレングリコール、ジオキサン等に溶解した溶液として添加する。また基質の水懸濁液に界面活性剤または分散剤を加えてもよい。さらに、基質の微細懸濁液を超音波を使用して調製してもよい。

発酵には常法を利用できる。すなわち所望の微生物をエダミン増地(以下に述べる発酵増地と同じ)中、18ないし72時間、約15ないし35℃の温度で生育させることができる。発酵は通常の発酵メジウムに1ないし10重量%の栄養増殖

特開昭56- 8399(5)

質に対し所望の7 $\alpha$ -ヒドロキシ化を行い得ることがわかった。

微生物は培養液、菌系体またはその酵素抽出液の形で使用できる。培養液は適当なメジウム中に微生物を接種して調製できる。培養メジウムには炭素源、窒素源、無機塩および微生物の生育に適当な他の栄養素を添加できる。炭素源はたとえばグルコース、スクロース、デキストリン、マンノース、デンプン、乳糖、グリセロール等、窒素源はたとえばペプトン、肉抽出液、イースト抽出液、コーンステイブ液、カゼイン等のような窒素含有有機物質、硝酸塩、無機アンモニウム塩等のような窒素含有無機物質、無機塩はたとえばリン酸塩またはナトリウム、カリウム、マグネシウム、マンガン、鉄、銅等のようなミネラルである。

本発明のこの工程に用いられる培養方法としては、深部培養、振盪培養、静置培養等がある。しかしながら、本発明に用いられる微生物は有気条件を要求するので、通気を促進する条件下に培養するのが好ましい。

16

物を接種して開始させる。発酵条件は種の生育に用いたと同一でよい。18ないし96時間の接種期のうちに、基質のピスノルコレノールを好ましくは無水エタノール中溶液として、あるいは0.1ダツイーン80(ポリオキシエチレンソルビタンモノオレエート)中超音波調製溶液として加える。発酵は基質添加後120時間まで行われる。適当な発酵メジウムは以下の物質またはその倍量を混合することにより得られる。すなわち、エダミン(Edamin, Sheffield Chemical Co.), ラクトアルブミンの酵素消化物20g、コーンステイブ液3g、デキストロース50gに水を加えて最終容量1.6とする。メジウムのpHは酸菌たとえばオートクレーピングの前に約4ないし7好ましくは約5.0に調整する。

発酵メジウムからの所望の7 $\alpha$ -ヒドロキシ-3-ケート-ピスノルコレノール生成物の単離は本技術分野においてよく知られた方法を用いて容易に実施できる。すなわち、収獲金培養液を非混和性有機溶媒たとえば好ましくは酢酸エチルによつ

17

18

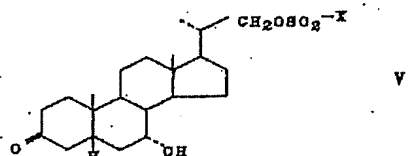
て抽出する。溶媒可溶性フラクションを次にゲルクロマトグラフィーたとえばシリカゲルQ-60を用い、ついで結晶化して精製する。

さらに発酵液からの所望の生成物の収率を向上させるために多くの操作を採用できることも明らかにされた。たとえば2,2'-ジピリジルのようなキレート剤の最終濃度 $0.5 \times 10^{-4} M$ ないし $0.75 \times 10^{-3} M$ の添加、グルコースまたはスクロース基質の最終濃度約5%の添加、基質添加後のインキュベーション発酵温度の約24℃への降下、また基質の1%ブイーン80中5%濃度への懸濁等である。発酵メジウムに既着剤を添加することにより、さらに高い収率が達成できる。たとえばアンバーライト (Amberlite) XAD7 (Rohm & Haas Co.), アクリル酸メチルエステルポリマーのような重合樹脂吸着剤を、基質濃度約1g/lまでの発酵メジウムに0.3-0.6重量%濃度で加えると、収率が改善される。既着剤濃度約0.6重量%で最善の収率改善が達成できる。

上記発酵操作によつて製造される7 $\alpha$ -ヒドロ

19

は-10°の温度で反応させる。反応は強酸含有有機溶媒たとえばピリジン中で行うのが便利である。この反応の好ましい反応剤はポートルエンホルモニルクロライドである。この反応で得られた生成物は上述の化合物について述べたと同じ方法で単離できる。生成物は次式で表すことができる。



(式中Xはメチルまたはp-トリル、好ましくはp-トリルである)。

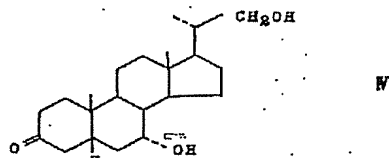
式Vの化合物の好ましい例は(5 $\beta$ )-7 $\alpha$ -ヒドロキシ-22-((4-メチルフェニル)ホルモニルオキシ)-23,24-ビスノルコラン-3-オンである。

本発明の次の工程では、式Vの化合物をマロン酸ジC<sub>1-3</sub>アルキルエステルのナトリウム塩好ましくはマロン酸ジメチルエステルのナトリウム塩

21

特開昭56-8399(6)

キシ-3-ケト-ビスノルコレノールを次に接触水素添加して、式



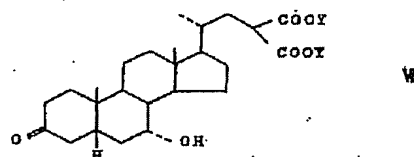
で示される(5 $\beta$ )-7 $\alpha$ ,22-ジヒドロキシ-23,24-ビスノルコラン-3-オンを製造する。

この水素添加に適した触媒は好ましくは固体支持体につけたパラジウム、好ましくは5%パラジウム黒である。この反応は非水性極性溶媒たとえばジメチルホルムアミド中、約0ないし50℃好ましくは室温、常圧で実施される。生成物の単離は上述の発酵液からの場合と同様に、すなわちシリカゲル60を用いたゲルクロマトグラフィーおよび結晶化に行われる。

式Wの飽和生成物を次にp-トリルまたはメチルホルモニルクロライドと78ないし0℃好ましく

20

と、たとえばジメチルホルムアミドのような極性非水溶媒中、0ないし100℃好ましくは約50℃において、脱気を除いた不活性雰囲気下と反応させる。マロン酸ジC<sub>1-3</sub>アルキルエステルのナトリウム塩はジメチルホルムアミド中マロン酸エステルに水素化ナトリウムの溶液を加えることにより *in situ* で調製できる。目的生成物の単離は前述の操作と同様に行う。得られた生成物は次の構造を有する。



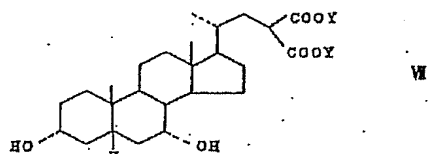
(式中RはC<sub>1-3</sub>アルキル、好ましくはメチルである)。

式Wの化合物の好ましい例は(5 $\beta$ )-24-ノルコラン-7 $\alpha$ -オール-3-オン-23,23-ジカルボン酸ジメチルエステルである。

式Wの化合物を次に、式

22





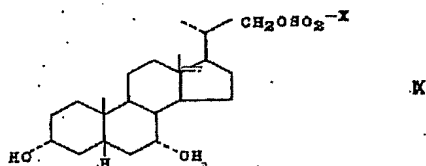
(式中YはC<sub>1-3</sub> アルキル、好ましくはメチルである)で示される相当する3-ヒドロキシ化合物に還元する。

式Ⅵの化合物の好ましい例は(5β)-24-ノルコラン-3α, 7α-ジオール-23, 23-ジカルボン酸ジメチルエステルである。

この還元操作は通常の化学還元剤と例えば水素化ホウ素ナトリウムを用い、含水C<sub>1-3</sub> アルカン-オール溶媒と例えば95%エタノール中、0ないし5.0℃好ましくは室温、常圧で実施される。反応生成物は、反応混合物を酸性にし、ハロゲン化炭化水素溶媒と例えばジクロロエタンで抽出して単離する。溶媒を除去すると粗生成物が得られ、これをさらに精製することなくそのまま次工程に使用できる。

23

7.8℃ないし室温、好ましくは約-1.0℃において、不活性有機溶媒と例えば環状エーテル好ましくはテトラヒドロフラン中、不活性雰囲気下、処理して、式



(式中Xは先に定義したと同じである)で示されるジオールが生成する。

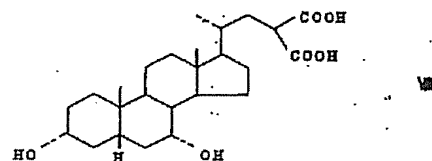
式Kの化合物の好ましい例は2, 2-[(4-メチルフエニルスルホニル)オキシ]-23, 24-ビスノルコラン-3α, 7α-ジオールである。

次工程では式Kの化合物をステロイド化学においてヒドロキシ保護基として慣用されているアシル化剤の2倍モル以上の過剰と反応させ、相当するジアシル化合物に導く。適当なアシル化剤としてはC<sub>2-6</sub> 低級アルカン酸の無水物、好ましくは

25

特開昭56- 8399(7)

式Ⅵのジオールを次に強塩基と例えば水酸化バリウムの存在下に還流して加水分解し、後処理後酸性にすると、式



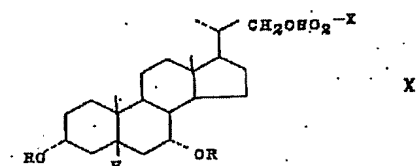
で示されるジカルボン酸、(5β)-24-ノルコラン-3α, 7α-ジオール-23, 23-ジカルボン酸が得られる。

本発明のこの態様の最終工程は式Ⅶのジカルボン酸の脱炭酸である。式Ⅶの化合物を不活性雰囲気下、約190-205℃の温度に加熱して、所望の最終生成物、上記式Iのケノデオキシコール酸が得られる。

本発明方法の別の態様によれば、式Vの化合物を水素化リチウムアルミニウムアルコキシサイドのような化学還元剤、好ましくは水素化リチウムアルミニウムトリ-tert-ブトキシサイドにより、約-

24

無水酢酸がある。アシル化はアミン塩基と例えば4-ジメチルアミノピリジンの存在下、ピリジンのような適当な有機溶媒中で容易に実施できる。得られたジアシル生成物は次式の構造を有する。

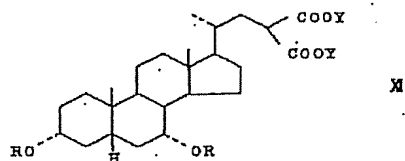


(式中Xは先に定義したと同じであり、Rはアシルである)

式Xの化合物の好ましい例は2, 2-[(4-メチルフエニル)スルホニル]オキシ-23, 24-ビスノルコラン-3α, 7α-ジオール-3, 7-ジアセテートである。

式Xのジアシル化合物を次にマロン酸ジC<sub>1-3</sub> アルキルエステルのナトリウム塩、好ましくはマロン酸ジエチルエステルのナトリウム塩と、化合物Vの化合物Ⅵへの変換の場合と全く同様に反応させて、式

26



(式中RおよびYは先に定義したと同じである)で示される化合物を製造する。

式Xの化合物の好ましい例は3 $\alpha$ , 7 $\alpha$ -(ジアセトキシ)-24-ノルコラン-23, 23-ジカルボン酸ジエチルエステルである。

式Xの化合物を上述の式Xのジカルボン酸に変換する工程は、強塩基たとえばアルカリ金属水酸化物溶液好ましくは水酸化カリウムにより、加熱下好ましくは還流温度で加水分解することにより行われる。この反応は、1種または2種以上の低級アルカノールたとえばメタノール、イソプロパノールまたはその混合物のような溶媒を用いて行うことができる。

本発明の方法および中間体について以下の実施例によりさらに詳細に説明する。

## 例1

(5 $\beta$ )-7 $\alpha$ , 22-ジヒドロキシ-23, 24-ビスノルコラン-4-エン-3-オン(7 $\alpha$ -OH-3-KC)

**発酵操作** 培養は以下のメジウムにより維持した。細菌、グルコース栄養天培地；菌、Sabourand Dextrose 栄養天培地(BD)(Difco)；放線菌、デンプン-カゼイン栄養天培地。増殖接種物はSabourand Dextrose プイヨン(Difco)または発酵段階で使ったメジウム中で調製した。後者の組成は、エダミン(Edamin: Sheffield Chemical Co.) 20g、コーンステープ液3g、デキストロース50gで、蒸留水で最終容量1.0とした。pHはオートクレーブでの被菌前にHClで5.0に調整した。発酵はそれぞれ、メジウム50および100mlを含む250または500mlエrlenmeyer-フラスコ中で実施した。フラスコに接種メジウム中、250 RPM ロータリーシェーカー(離心率5 $\times$ )上28 $\pm$ 72時間生育させた培養液から栄養増殖物(5g)を接種した。とく

に指示のない限り、発酵段階にも同じ条件を採用した。48時間インキュベーション後、3-ケト- $\beta$ -ビスノルコレノール(3-KC)を3Aエタノール溶液、または超音波処理(Branson Sonifier Cell Disruptor 200)で調製したツイーン80(Atlas Chemical Industries)0.1%溶液中5%懸濁液として加えた。基質添加後120時間までインキュベーションを続けた。

32属から75種の菌、5属から6種の放線菌、および3属から2種のグラム陰性菌、1属から3種のグラム陽性菌(計152培養)について、3-KCの7 $\alpha$ -OH-3-KCへの変換能を試験した。このスクリーニングの結果、わずか7培養で所望の変換能が認められた。同じ属でも、また場合によつては同じ種に属する菌株でも、基質に所望の変換を行い得るかどうかは一定しなかつた(表1)。

表 1

培養微生物	由来コード	7 $\alpha$ -OH-3-KC
<u>Botryodiplodia theobromae</u>	IFO 6469	+
"	DSM 62-678	+
"	DSM 62-679	+
<u>Lasiodiplodia theobromae</u>		
( <u>Botryodiplodia theobromae</u> )	ATCC 28570	+
<u>Lasiodiplodia theobromae</u>		
( <u>Diplodia theobromae</u> )	ATCC 9055	0
<u>Lasiodiplodia theobromae</u>		
( <u>Diplodia theobromae</u> )	ATCC 10936	0
<u>Lasiodiplodia theobromae</u>		
( <u>Botryodiplodia theobromae</u> )	ATCC 16931	0
<u>Lasiodiplodia theobromae</u>		
( <u>Botryodiplodia theobromae</u> )	ATCC 26123	0
<u>Diplodia natalensis</u>	ATCC 9055	0
<u>Diplodia Zeae</u>	QM 6983	0
<u>Botryodiplodia malorum</u>	CBS 13450	0
<u>Botryosphaeria ribis</u>	ATCC 22802	+
" <u>berengeriana</u>	ATCC 12557	+
" <u>rhodina</u>	CBS 37454	+
"	CBS 28747	+
"	CBS 30658	+
" <u>corticis</u>	ATCC 22927	0

30

Botryodiplodia theobromae IFO 6469 についての振盪培養実験から、キレート剤 2,2'-ジピリジルを  $0.5 \times 10^{-4}$  ないし  $0.75 \times 10^{-3}$  M 最終濃度の範囲で添加すると生成物の収率を増加できることが明らかに became.

また、基質を添加する 48 時間目にははじめ培養液に加えたグルコースは枯渇していることがわかった。この時点でグルコースまたはスクロース（最終濃度 5%）を添加すると、3-KC および 7 $\alpha$ -OH-3-KC の分解を低下させた。48 時間目に濃度を 24℃ に低下させること、0.1% ツイン 80 に超音波処理で懸濁させた基質の 5% 懸濁液を用いることも収率をわずかに改善した。このすべての改良条件を含わせると、3-KC の 7 $\alpha$ -OH-3-KC への 25% の変換が達成でき、未反応 3-KC 46% の存在が認められた（高圧液体クロマトグラフィー、HPLC による分析）。

発酵液に吸着剤を添加すると、もつとも著しい収率の改良が達成された。Botryodiplodia

theobromae IFO 6469 株の発酵液にアンバーライト XAD-7、0.3-0.6% を添加すると 7 $\alpha$ -OH-3-KC の収率の増加がみられた。この生成物の増加は 3-KC 濃度 1g/l までで認められ、これ以上高い基質濃度では XAD-7 の効果はなかった。同様に XAD-7 を 0.6% を超えて加えてもそれ以上収率が上昇することはない。使用前に XAD-7 樹脂をアセトン中で 2.5 時間還流し、ついで痕跡のアセトンおよび色が消失するまでくり返し蒸留水で洗浄し、40℃ で乾燥した。

基本的な発酵操作にわずかの改良を加えて、

Lasiodiplodia theobromae 培養液を用いて 3-KC の 7 $\alpha$ -ヒドロキシ化を行った。発酵液の HPLC 分析から、この微生物は収率 25%、残存基質 22% という結果を示した。

3-KC の変換生成物の確認は、同培養液から単離された物質について、以下の方法で実施した。

7 $\alpha$ -OH-3-KC の単離：3-KC 1g を添加した発酵の収穫全培養液 2l を 2 回、各回 1

31

32

6の酢酸エチルで抽出した。抽出液を合し、0.5 mlに濃縮し、ガラスウールを通して濾過した。濾液を蒸発乾固し、残渣を150 mlの熱酢酸エチルに再溶解した。室温に冷却したのち、不溶性フラクションを再び濾去した。濾液を蒸発させて5 mlに濃縮し、シリカゲルG-60、200 gを充填した径29 mmのカラムに適用した。カラムを酢酸エチルで展開し、7 $\alpha$ -OH-3-KCに富むフラクションを合し、濃縮し、シリカゲルG-60上、メチレンクロライド、酢酸エチル、ヘキサシ(1:1:1)で展開して再クロマトグラフィーに付した。7 $\alpha$ -OH-3-KCに富むフラクションを再び合し、溶媒を蒸発させて除き、少量の酢酸エチルから再結晶すると生成物が得られた(Botryodiplodia 培養液から220 mg, Lasiodiplodia 培養液から185 mg)。7 $\alpha$ -OH-3-KCとしての同定は、7 $\alpha$ -OH-3-KCの合成標品との比較によつた。融点199-200 $^{\circ}$ C(標品197.5 $^{\circ}$ -200 $^{\circ}$ C)、混融(融点降下なし)、NMR、マスペクトル、旋光度

33

光度をGilford 250比色計で測定し、この値を3-KCおよび7 $\alpha$ -OH-3-KC標品の既知量のクロマトグラフィーによつて得られた標準曲線と比較した。TLCの結果はスポットの螢光を測定しても定量できた(Zeiss TLCスペクトロフォトメーター, PMQH)。

高圧液体クロマトグラフィー(HPLC)分析は、メチレンクロライド中20 mgジオキサンで展開したシリカゲル(HR-I-10)カラム上で実施した。カラムは254 nm検出器でモニターした。

#### 例2

(5 $\beta$ )-7 $\alpha$ , 22-ジヒドロキシ-23, 24-ビスノルコラン-3-オン

7 $\alpha$ , 22-ジヒドロキシ-23, 24-ビスノルコラン-4-エン-3-オン1.92 g(0.0055モル)を新たに蒸留した乾燥ジメチルホルムアミド25 mlに溶解し、この溶液に5 gパラジウム黒0.19 gを加えた。この懸濁液を水素下、室温で5.5時間攪拌した。水素の吸収は

35

も一致した。

特開昭56-8399(10)

分析: とくに指示のない限り、3-KCおよび7 $\alpha$ -OH-3-KCの定量分析は薄層クロマトグラフィー(TLC)によつた。分析は発酵サンプルの酢酸エチル抽出液について実施した。抽出液を40 $^{\circ}$ Cで蒸発乾固し、はじめのサンプル容量の10分の1以下の3 Aエタノールに再溶解した。クロマトグラフィーはシリカゲルF254 TLC板(E. Merck, Darmstadt, Germany)で行い、酢酸エチルで展開した。展開板を風乾し、スポットを短波長紫外線(254 nm)で確認した。差質および生成物のとのTLC系におけるR<sub>F</sub>値はそれぞれ0.75および0.36であつた。0.36より小さいR<sub>F</sub>値を示す少量の生成物がクロマトグラム上に認められたが、これを所望の生成物から分離するには同一溶媒系での展開をくり返すことが有効であつた。

スポット中の物質の定量分析は、板からスポットの領域を注意深くかき取り、試験管にとつて、一夜3 Aエタノール5 mlで溶出した。溶出液の吸

34

1.08 ml(理論量124 ml)で止まつた。触媒を濾去し、酢酸エチル200 mlで洗浄した。濾液を水1 l中に注ぎ、酢酸エチル5 $\times$ 250 mlで抽出した(乳化を防止するため飽和食塩水を添加)。酢酸エチル抽出液を合し、水5 $\times$ 250 ml、ついで飽和食塩水2 $\times$ 250 mlで洗浄した。酢酸エチル溶液を硫酸ナトリウムで乾燥し、真空中で蒸発させると、粗(5 $\beta$ )-7 $\alpha$ , 22-ジヒドロキシ-23, 24-ビスノルコラン-3-オン2.13 gが得られた。全生成物を150 gのシリカゲル60上クロマトグラフィーに付し、酢酸エチルで溶出した。生成物フラクション1.7 gを300 gのシリカゲル60上再クロマトグラフィーに付し、酢酸エチル/メチレンクロライド(2:1)混合溶媒で溶出すると、(5 $\beta$ )-7 $\alpha$ , 22-ジヒドロキシ-23, 24-ビスノルコラン-3-オン1.29 g(6.7%)が得られた。分析サンプルは酢酸エチルから再結晶した。融点132-133 $^{\circ}$ C,  $[\alpha]_D^{25} = +15.4$ (c 1.01, CHCl<sub>3</sub>), C<sub>28</sub>H<sub>46</sub>O<sub>3</sub>として計算値c 75.82, H 10.41,

36

分析値 C 76.10, H 10.69.

例 3

(5β)-7α-ヒドロキシ-22-[(4-メチルフエニル)スルホニル]オキシ]-23, 24-ビスノルコラン-3-オン

(5β)-7α, 22-ジヒドロキシ-23, 24-ビスノルコラン-3-オン 1.0 g (0.00286 モル) を -10°C に冷却した無水ピリジン 20 ml に溶解した液に p-トルエンスルホニルクロライド 2.18 g (0.0114 モル) を加えた。この溶液を -10°C で 1 時間撹拌し、ついで冷蔵庫に一夜放置した。反応混合物を次に 0.25 N 重炭酸ナトリウム溶液 400 ml 中に注ぎ酢酸エチル 4 × 100 ml で抽出した。酢酸エチル抽出液を合し、1 N 重炭酸ナトリウム 3 × 100 ml、水 3 × 100 ml、1 N 塩酸 3 × 100 ml で順次洗浄し、最後に中性になるまで水洗した。硫酸ナトリウムで乾燥したのち、酢酸エチル溶液を蒸発させ、得られた粗生成物 1.54 g を 150 g のシリカゲル 60 上カラムクロマトグラフィーによ

37

ニル]オキシ]-23, 24-ビスノルコラン-3-オン 0.251 g (0.0005 モル) を加えた。反応混合物を 1 時間室温で撹拌し、油浴中で 18 時間 50°C に加熱し、ついで水 25 ml 中に注いだ。酢酸エチル 4 × 100 ml で抽出したのち、水、飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥し、蒸発させ、粗生成物 0.20 g を得た。20 g のシリカゲル 60 上クロマトグラフィーに付し、クロロメタン/酢酸エチル (2:1) 混合物で溶出すると、(5β)-24-ノルコラン-7α-オール-3-オン-23, 23-ジカルボン酸ジメチルエステル 0.041 g (収率 17%) が得られた。

例 5

(5β)-24-ノルコラン-3α, 7α-ジオール-23, 23-ジカルボン酸ジメチルエステル

(5β)-24-ノルコラン-3-オン-23, 23-ジカルボン酸ジメチルエステル 0.195 g (0.00042 モル) の 95% エタノール 12 ml 溶液に、室温、アルゴン雰囲気下、水素化ホウ素

特開 56-8399 (11)

が精製した。ベンゼン/酢酸エチル (4:1) で溶出すると (5β)-7α-ヒドロキシ-22-[(4-メチルフエニル)スルホニル]オキシ]-23, 24-ビスノルコラン-3-オン 1.15 g (収率 80%) が得られた。分析サンプルはトルエン/ヘプタンから再結晶した。融点 157-160°C,  $[\alpha]_D^{25} = +12.7$  (c 0.994, CHCl<sub>3</sub>), 計算値 C 69.29, H 8.42, 分析値 C 69.55, H 8.47。

例 4

(5β)-24-ノルコラン-7α-オール-3-オン-23, 23-ジカルボン酸ジメチルエステル

室温、アルゴン雰囲気下、乾燥ジメチルホルムアミド 3 ml に 57% 水素化ナトリウム 30 mg (0.0007 モル)、ついでマロン酸ジメチルエステル 0.066 g (0.0005 モル) のジメチルホルムアミド 1 ml 溶液を加えた。1.5 時間 40-50°C で撹拌したのち、(5β)-7α-ヒドロキシ-22-[(4-メチルフエニル)スルホ

38

ナトリウム 0.025 g (0.00063 モル) を加えた。反応混合物を 2 時間撹拌し、ついで 1 N 塩酸 4 ml を含む水 50 ml 中に注いだ。この水溶液をジクロロメタンで抽出し、抽出液を合して硫酸ナトリウムで乾燥し、蒸発させると粗製粗ジオール 0.195 g が得られた。

例 6

(5β)-24-ノルコラン-3α, 7α-ジオール-23, 23-ジカルボン酸

粗 (5β)-24-ノルコラン-3α, 7α-ジオール-23, 23-ジカルボン酸ジメチルエステル 0.195 g のエタノール 5 ml 溶液に水 2 ml ついで水酸化バリウム 0.80 g を加えた。この溶液を 3 時間還流加熱し、室温に冷却し、ついで 1 N 塩酸を加えて酸性にした。ジクロロメタンで抽出、乾燥、溶媒を蒸発させると (5β)-24-ノルコラン-3α, 7α-ジオール-23, 23-ジカルボン酸 0.135 g が得られた。

例 7

ケノゾオキシコール酸

40

39

アルゴン雰囲気下、丸底フラスコ中で(5β)-2,4-ノルコラン-3α, 7α-ジオール-2,3, 2,3-ジカルボン酸0.135g (0.00031モル)を190-205℃に10分間加熱した。気体の発生が認められた。冷却後、残留物を10gのシリカゲル60上クロマトグラフィーに付し酢酸エチル中10%エタノールで溶出するとケノデオキシコール酸がガラス状物質として得られた。TLCおよびNMRは標品と一致した。

#### 例8

22-[(4-メチルフエニル)スルホニル]オキシ]-2,3, 2,4-ビスノルコラン-3α, 7α-ジオール

(5β)-7α-ヒドロキシ-22-[(4-メチルフエニル)スルホニル]オキシ]-2,3, 2,4-ビスノルコラン-3-オン0.350g (0.00069モル)を乾燥テトラヒドロフラン10mlにとり、アルゴン雰囲気下、-10℃に冷却し、水素化リチウムアルミニウムトリセブトキサイド0.391g (0.00138モル)の乾

41

#### 7α-ジオール-3, 7-ジアセテート

22-[(4-メチルフエニル)スルホニル]オキシ]-2,3, 2,4-ビスノルコラン-3α, 7α-ジオール0.290g (0.00049モル)無水酢酸0.6ml (0.0064モル)、乾燥ピリジン0.6ml (0.0074モル)、4-ジメチルアミノピリジン0.003g (0.000025モル)および乾燥トルエン10mlの混合物を一夜、アルゴン雰囲気下に攪拌した。この混合物を0.5N塩酸50mlで酸性にし、酢酸エチル3×20mlで抽出した。酢酸エチル抽出液を中性になるまで水洗し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。混合物をろ過し、溶媒を真空中で除去すると粗生成物0.311gが得られた。これをメタノールから再結晶すると、22-[(4-メチルフエニル)スルホニル]オキシ]-2,3, 2,4-ビスノルコラン-3α, 7α-ジオール3, 7-ジアセテートの第一の結晶0.2577g (76%)が得られた。母液を蒸発させると生成物0.065g (19%)と得られ、TLCによる純度は95%以上で

43

特開昭56-8399(12)

乾燥テトラヒドロフラン5ml溶液を滴加した。1.5時間後、1N塩酸2mlを加えて反応を止めた。テトラヒドロフランを真空中で除去した。残留物を水50mlにとり、酢酸エチル3×40mlで抽出した。酢酸エチル抽出液を合して中性になるまで水洗し、無水硫酸ナトリウム上で乾燥した。混合物をろ過し、溶媒を真空中で除去すると、粗生成物0.374gが得られた。これを7gのシリカゲル60上クロマトグラフィーに付し、酢酸エチルで溶出すると、22-[(4-メチルフエニル)スルホニル]オキシ]-2,3, 2,4-ビスノルコラン-3α, 7α-ジオール0.290g (88%)が得られた。分析サンプルはインプロパノール/水から再結晶した。融点87-89℃,  $[\alpha]_D^{25} = +8.25$  (c, 0.9933, CHCl<sub>3</sub>), C<sub>29</sub>H<sub>44</sub>O<sub>5</sub>Sとして計算値C 69.01, H 8.79, S 6.35, 分析値C 69.21, H 8.88, S 6.07。

#### 例9

22-[(4-メチルフエニル)スルホニル]オキシ]-2,3, 2,4-ビスノルコラン-3α,

42

ある。分析サンプルはメタノールから再結晶した。融点174-175℃,  $[\alpha]_D^{25} = +7.41$  (c, 0.8768, CHCl<sub>3</sub>), C<sub>29</sub>H<sub>48</sub>O<sub>7</sub>Sとして計算値C 67.32, H 8.22, 分析値C 67.34, H 8.33。

#### 例10

3α, 7α-(ジアセトキシ)-2,4-ノルコラン-2,3, 2,3-ジカルボン酸ジエチルエステル

水素化ナトリウム50%油懸濁液0.264g (0.0055モル)をアルゴン雰囲気下、乾燥ペンタン3×3mlで洗浄した。ついで乾燥トルエン5mlを加えた。マロン酸ジエチルエステル1.056g (0.0066モル)の乾燥トルエン5ml溶液を滴加し、ついで還流加熱して、22-[(4-メチルフエニル)スルホニル]オキシ]-2,3, 2,4-ビスノルコラン-3α, 7α-ジオール3, 7-ジアセテートの乾燥トルエン10ml溶液を滴加した。この混合物を20時間還流加熱した。さらにマロン酸ジエチルエステル0.49g

44

(0.003モル)および洗浄(ペンタン)水素化ナトリウム0.050g(0.001モル)を加え、混合物を還流加熱した。5時間後、冷混合物を水100ml中に注ぎ、酢酸エチル3×60mlで抽出した。酢酸エチル抽出液を合し、中性になるまで水洗し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。混合物を通過し、真空中で溶媒を除去すると、残留物1.114gが得られた。これを100gのシリカゲル60上クロマトグラフィーに付し、メチレンクロライド/酢酸エチル(9:1)で溶出すると3 $\alpha$ , 7 $\alpha$ -(ジアセトキシ)-24-ノルコラン-23, 23-ジカルボン酸ジエチルエステル0.849g(76%)が得られた。分析サンプルはメタノール/水から再結晶した。融点121.5-123.0 $^{\circ}$ C,  $[\alpha]_D^{25} = +23.97$ (c, 1.0679 CHCl<sub>3</sub>), C<sub>33</sub>H<sub>52</sub>O<sub>8</sub>として計算値C 68.72, H 9.09, 分析値C 68.92, H 9.00。

## 例11

3 $\alpha$ , 7 $\alpha$ -ジヒドロキシ-24-ノルコラン-23, 23-ジカルボン酸

メタノール3ml, イソプロパノール5mlおよび水酸化カリウム0.779g(0.0139モル)の溶液に3 $\alpha$ , 7 $\alpha$ -(ジアセトキシ)-24-ノルコラン-23, 23-ジカルボン酸ジエチルエステル0.350g(0.0006モル)を加えた。この混合物をアルゴン雰囲気下に4時間還流加熱し、ついで室温で一晩攪拌した。アルコール溶媒を真空中で除去し、混合物を水50ml中に注ぎ、ジエチルエーテル3×25mlで洗浄した。水層を酸性にし、沈殿を吸引ろ過して集めた。粗ジ酸0.252g(96%)が得られた。融点20.3 $^{\circ}$ C(分解)。これはさらに精製することなくそのまま次の工程に用いた。

1975年

## 例12

## ケノデオキシコール酸

3 $\alpha$ , 7 $\alpha$ -ジヒドロキシ-24-ノルコラン-23, 23-ジカルボン酸0.125g(0.00028モル)、キシレン5mlおよび乾燥ピリジン1mlの混合物を1時間還流加熱した。混合物を冷却し、溶媒を真空中で除去し、残留物を

酢酸エチル25mlに溶解した。酢酸エチル溶液を1N塩酸3×10mlで洗浄し、ついで中性になるまで水洗した。酢酸エチル抽出液を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過し、真空中で溶媒を除去すると、粗生成物0.111gが得られた。これをヘキサン/酢酸エチルから再結晶すると、第一の結晶0.086g(76%)が得られ、これは標品ケノデオキシコール酸と同じスペクトルを示し、混融して融点降下をみなかつた。分析サンプルはシリカゲル60上クロマトグラフィーに付し、メチレンクロライド/メタノール/ヘキサン(2:1:1)で溶出し、ついで酢酸エチルから再結晶して調製した。

代理人 浅 村 皓

## 第1頁の続き

## ⑦発 明 者

ミラン・アール・ウスココビツク  
アメリカ合衆国ニュージャージー州アツパー・モントクレアー・ハイランド・アベニュー253

## 手続補正書 (自発)

昭和55年7月10日

特許庁長官殿

## 1. 事件の表示

昭和55年特許願第 47936 号

## 2. 発明の名称

ケソデオキシコール酸の製造方法

## 3. 補正をする者

事件との関係 特許出願人

住 所

氏 名

(名 称)

エフ・ホフマン・ラ・ロシュ・ウント・コンパニー  
アクチエンゲゼルシャフト

## 4. 代 理 人

居 所

〒100 東京都千代田区大手町二丁目2番1号

新大手町ビルディング331

電 話 (211) 3 6 5 1 (代 表)

氏 名

(8889) 浅 村 皓

## 5. 補正命令の日付

昭和 年 月 日

## 6. 補正により増加する発明の数

特許庁

55.7.10

## 7. 補正の対象

明 細 書

出願第二紙

## 8. 補正の内容

別紙のとおり

明細書の浄書 (内容に変更なし)